

УДК 616.379-008.64-072-089

© С. Д. ШАПОВАЛ\*, І. Л. САВОН\*, М. Г. КЛЄВЦОВА\*\*

ДЗ "Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України"\*,  
КУ "Запорізький обласний центр із профілактики та боротьби зі СНІДом"\*\*\*

## Порушення клітинного та гуморального імунітету у хворих на сепсис на тлі ускладненого синдрому діабетичної стопи

S. D. SHAPOVAL\*, I. L. SAVON\*, M. H. KLIEVTSOVA\*\*

SI "Zaporizhian Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Public Health of Ukraine"\*,  
CE "Zaporizhian Regional Center on a Prophylaxis and Fight against AIDS"\*\*\*

### ALTERATIONS OF CELLULAR AND HUMORAL IMMUNITY IN SEPTIC PATIENTS ON THE BACKGROUND OF COMPLICATED DIABETIC FOOT SYNDROME

Обстежено 73 пацієнти із змішаною формою синдрому діабетичної стопи. У всіх пацієнтів був цукровий діабет 2 типу, середня тривалість захворювання склала (12,3±2,5) року. У 45 пацієнтів розвинувся сепсис. Дослідження механізмів формування імунних порушень у хворих на сепсис, викликаний ускладненим СДС, свідчить про важливу роль цитокінових медіаторів у підтримці гомеостазу. Використання препаратів з імуномодуючою дією в комплексі модифікованого лікування гнійно-запальних пошкоджень м'яких тканин стопи сприяє нормалізації рівня Ig, зниженню рівня ЦІК, а також зникненню дисбалансу між рівнем прозапальних і протизапальних цитокінів. Зміни вмісту ІЛ-10 у сироватці крові, а так само показників неспецифічного і специфічного ланок гуморального імунітету, можуть бути використані для прогнозування тяжкості перебігу захворювання і вибору тактики лікування.

We examined 73 patients with mixed diabetic foot syndrome. All patients had type 2 diabetes, mean disease duration was 12,3 ± 2,5 years. In 45 patients sepsis had developed. Investigation of the mechanisms of immune disorders in patients with sepsis caused by complicated DFS, indicates the important role of cytokine mediators in the maintenance of homeostasis. Use of medications with immunomodulatory effects in combination of a modified treatment of inflammatory lesions of the soft tissues of the foot helps to normalize the level of Ig, reducing the CIC, as well as the disappearance of the imbalance between the levels of proinflammatory and antiinflammatory cytokines. Changes of IL-10 in serum, as well as indicators of nonspecific and specific parts of humoral immunity, can be used to predict the severity and choice of treatment.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій.** Особливістю перебігу синдрому діабетичної стопи (СДС) є у більшості випадків приєднання інфекції. При цьому виникає велика вірогідність запуску механізму транслокації мікроорганізмів та токсинів із розвитком інфекційно-токсичного шоку [1]. Виходячи з цього, лікування сепсису на тлі ускладненого СДС є одним із невирішених завдань. Відомо, що комплекс лікувальних заходів передбачає дію на макро- та мікроорганізми. Крім того, проведення загальної інтенсивної терапії має бути спрямоване на відновлення і підтримку життєво важливих функцій органів і систем пацієнта [3, 4, 5].

На жаль, на сьогодні не існує єдиного лікувального препарату, який би ефективно впливав на всі ланки патогенезу ускладненого СДС. Отже, вирішення питань патогенетичної дії при порушенні гомеостазу при вищезгаданій патології є вельми актуальним.

Для розробки індивідуальних підходів до лікування таких хворих нарівні з вивченням стану клітинної і гуморальної ланок імунітету необхідно враховувати стан цитокінового статусу з урахуванням регуляторного впливу Т-хелперів (Тх), а також оцінку особливостей імунної відповіді [6].

**Мета роботи:** вивчити динаміку найбільш характерних цитокінів – ІЛ-2 та ІЛ-10, а також показників неспецифічної і специфічної ланок гуморального імунітету у хворих на сепсис на тлі ускладненого СДС як можливих об'єктивних критеріїв якості модифікованого лікування.

**Матеріали і методи.** Обстежено 73 пацієнти із змішаною формою СДС на тлі цукрового діабету II типу, які перебували на лікуванні в гнійно-септичному центрі з ліжками діабетичної стопи міської клінічної лікарні № 3 м. Запоріжжя, за період 2009–2011 рр.

Середній вік пацієнтів склав (64,7±3,2) року. Середня тривалість цукрового діабету склала

(12,3±2,5) року. У 46 (63 %) хворих відмічено середньої тяжкості і у 27 (37 %) – тяжкий перебіг цукрового діабету.

Досліджувані хворі були розподілені на групи:

– група порівняння (хворі СД II типу без ускладнень) у кількості 28 пацієнтів;

– хворі з СДС, у яких захворювання було ускладнено сепсисом, – 45 пацієнтів, останні були розподілені на 2 групи залежно від виду отриманого лікування:

– I група – хворі, які одержували традиційне лікування, – 22 пацієнти;

– II група – хворі, які отримували модифіковане лікування, – 23 пацієнти.

Лікувальна тактика ґрунтувалася на комплексному підході, включала хірургічне і медикаментозне лікування.

Комплекс лікувальних заходів включав: компенсацію вуглеводного обміну; антибактеріальну терапію; нестероїдні протизапальні засоби; препарати, що поліпшують метаболізм нервової тканини; дезагреганти; низькомолекулярні гепарини; дезінтоксикаційну терапію; корекцію супутньої патології; розвантаження кінцівки; хірургічне втручання і лікування ран, фізіопроцедури.

Модифіковане лікування відрізнялося додатковим використанням ербісолу та лактопротеїну-С.

Ербісол – комплекс природних небілкових низькомолекулярних органічних сполук негормонального походження, отриманих із тваринної ембріональної тканини. Ербісол має імуномодулюючі та імунокорегуючі властивості. Застосовували по 2 мл внутрішньом'язово, двічі на добу, вранці та ввечері протягом 10 діб.

Лактопротеїн-С – це розчин для інфузій, основні складові якого альбумін, сорбітол і натрію лактат. Сприяє нейтралізації метаболічного ацидозу, нормалізує білковий обмін, має протишокову та дезінтоксикаційну дію. Застосовували по 200 мл внутрішньовенно двічі на добу впродовж 5 діб.

Дослідження проводили в динаміці: при госпіталізації, на 7–8, 12–16 і 25–30 добу.

За статевою і віковою ознаками, супутньою патологією групи були порівнянні.

Серед супутньої патології найчастіше зустрічалися: ішемічна хвороба серця, гіпертонічна хвороба та ожиріння.

Всі пацієнти оперовані під загальним знеболюванням. Їм були виконані різноманітні оперативні втручання: некректомії, некрсеквестректомії, розтин абсцесів і флегмон, ампутації пальців і ділянки стопи.

Високі ампутації виконані по одному пацієнту з кожної групи, у яких під час госпіталізації була клініка вологої гангренни стопи. Летальних випадків в обох групах не спостерігали.

Визначення цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-10) у периферичній крові і концентрацію основних класів Ig A, M, G здійснювали за допомогою ІФА та наборів реактивів виробництва “Вектор Бест”, Росія.

Визначення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) проводили за методом Ю. А. Гріневича.

Визначення активності системи комплементу (Сн50) за 50-відсотковим гемолізом проводили за методом Л. С. Резнікова.

Для оцінки імунного статусу (CD22+ – зрілі В-лімфоцити) проводили визначення субпопуляцій лімфоцитів із використанням моноклональних антитіл до антигенів методом проточної цитометрії.

Контрольні величини імуноглобулінів, цитокінів, комплементу отримали у 20 донорів (умовно здоровий контингент), які прийняли за норму.

Статистичний аналіз проводили з використанням програмного пакета “Statgraphics Plus for Windows 7,0”.

### Результати досліджень та їх обговорення.

Вміст цитокінів клітинного і гуморального профілю у хворих на сепсис, на тлі ускладненого СДС, представлено в таблиці 1.

Рівень цитокіну клітинного типу (Тх 1 типу) ІЛ-2 у хворих обох груп був значно нижчий ( $p < 0,05$ ), ніж у групі порівняння практично впродовж усього періоду дослідження, виняток становили 25–30 доби ( $p > 0,05$ ), а рівень цитокіну гуморального типу (Тх 2 типу) ІЛ-10 в цьому ж проміжку часу був достовірно збільшений ( $p < 0,05$ ), що, вочевидь, свідчить про перемикання клітинної ланки на гуморальну. Тобто спостерігалася супресія клітинної

Таблиця 1. Динаміка вмісту цитокінів у хворих на сепсис ( $M \pm m$ )

Показники	Група порівняння (n=28)	Терміни дослідження						
		при госпіталізації (n=45)	7–8 доба		12–16 доба		25–30 доба	
			група I (n=22)	група II (n=23)	група I (n=22)	група II (n=23)	група I (n=22)	група II (n=23)
ІЛ-2, пкг/мл	4,2±0,03	2,4±0,7*	2,3±0,9*	3,5±0,2***	3,0±0,7***	4,0±0,3***	4,1±0,4**	4,2±0,6**
ІЛ-10, пкг/мл	3,8±0,2	18,6±1,7*	7,8±0,1***	7,0±0,7***	7,2±0,7***	4,1±0,5**	4,2±0,1**	4,1±0,3**

Примітка. \* –  $p < 0,05$  відносно групи порівняння; \*\* –  $p < 0,05$  відносно показників при госпіталізації.

і активація гуморальної ланки імунної системи. Щоб переконатися в достовірності наших висновків, були досліджені показники неспецифічної і специфічної ланок гуморального імунітету.

У хворих на сепсис (табл. 2) при госпіталізації відзначено збільшення рівня Сн50 відносно показників донорів на 86 % ( $p < 0,05$ ) і лише тенденція до збільшення відносно групи порівняння на 7 % ( $p \geq 0,05$ ).

**Таблиця 2. Динаміка показників неспецифічного гуморального імунітету у хворих на сепсис ( $M \pm m$ )**

Показники	Донори (n=20)	Група порівняння (n=28)	Терміни дослідження						
			при госпіталізації (n=45)	7–8 доба		12–16 доба		25–30 доба	
				група I (n=22)	група II (n=23)	група I (n=22)	група II (n=23)	група I (n=22)	група II (n=23)
Сн50, у.о.	47,0±2,3	62,5±2,0	67,3±2,0*	40,3±3,0***	44,2±3,9**	35,2±3,8***	47,2±5,1**	42,3±1,2**	48,7±4,3**
ЦІК	6,2±0,8	4,35±0,1	5,7±0,9**	9,1±0,9***	7,0±0,9**	17,1±0,8***	6,5±0,2**	7,3±0,3**	6,0±0,3**

Примітка. \* –  $p < 0,05$  порівняно з донорами; \*\* –  $p < 0,05$  відносно групи порівняння.

У хворих I групи на 7–8 добу спостерігали зниження рівня Сн50 як відносно показників донорів на 15 % ( $p < 0,05$ ), так і щодо групи порівняння на 36 % ( $p < 0,05$ ). На 12–16 і 25–30 добу відмічено відповідне зниження на 26 % ( $p < 0,05$ ) та 10 % ( $p < 0,05$ ) відповідно.

У хворих II групи на 7–8 і 12–16 добу значення Сн50 практично відповідали показникам донорів ( $p > 0,05$ ), а відносно групи порівняння відмічено зниження на 30 % ( $p < 0,05$ ) та 25 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. На 25–30 добу показники практично відповідали значенням донорів ( $p > 0,05$ ), тоді як щодо групи порівняння вони були знижені на 22 % ( $p < 0,05$ ).

У хворих на сепсис при госпіталізації спостерігали тенденцію до зниження вмісту ЦІК на 9 % відносно донорів ( $p \geq 0,05$ ) і збільшення на 31 % ( $p < 0,05$ ) відносно групи порівняння. На 7–8 і 12–16 добу у хворих I групи спостерігалася збільшення вмісту ЦІК як відносно донорів на 46 % ( $p < 0,05$ ) та 175 % ( $p < 0,001$ ), так і групи порівняння на 109 % ( $p < 0,05$ ) та 293 % ( $p < 0,001$ ) відповідно. На 25–30 добу показники були збільшені на 17 % ( $p < 0,05$ ) та 67 % ( $p < 0,05$ ) відповідно.

У хворих II групи на 7–8 добу спостерігалася збільшення рівня ЦІК як відносно донорів, так і групи порівняння на 12 % ( $p < 0,05$ ) та 60 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. На 12–16 добу рівень ЦІК практично відпо-

відав показникам донорів ( $p > 0,05$ ), але перевищував значення групи порівняння на 49 % ( $p < 0,05$ ). На 25–30 добу спостерігалася тенденція до зниження щодо значень донорів на 4 % ( $p \geq 0,05$ ) і збільшення щодо групи порівняння на 37 % ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, результати дослідження стану неспецифічної резистентності у хворих I групи (високий рівень ЦІК і дефіцит комплементу) пов'язані з тривалим і масивним антигенним навантаженням, що вказує на доцільність використання в лікуванні хворих цієї групи імунокорегувальних засобів. Повна нормалізація рівня ЦІК у хворих II групи є підтвердженням того, що застосування імуномодуючих препаратів патогенетично обґрунтоване.

При госпіталізації у хворих на сепсис спостерігалася тенденція до зниження вмісту IgA на 9 % ( $p \geq 0,05$ ) відносно групи донорів і збільшення відносно групи порівняння на 37 % ( $p < 0,05$ ). Рівні IgM та IgG перевищували значення групи донорів на 78 % ( $p < 0,05$ ) і 51 % ( $p < 0,05$ ) та групи порівняння на 115 % ( $p < 0,05$ ) і 54 % ( $p < 0,05$ ) відповідно (табл. 3).

Вміст CD22+ перевищував значення донорів і групи порівняння на 11 % ( $p < 0,05$ ) і 130 % ( $p < 0,05$ ) відповідно.

У хворих I групи на 7–8 добу відзначали тенденцію до збільшення рівня IgA, M, G відносно значень

**Таблиця 3. Динаміка показників гуморального імунітету у хворих на сепсис ( $M \pm m$ )**

Показники	Донори (n=20)	Група порівняння (n=28)	Терміни дослідження						
			при госпіталізації (n=45)	7–8 доба		12–16 доба		25–30 доба	
				група I (n=22)	група II (n=23)	група I (n=22)	група II (n=23)	група I (n=22)	група II (n=23)
IgA, г/л	1,81±0,08	1,24±0,05*	1,71±0,07**	1,9±0,01**	2,1±0,01***	2,5±0,02***	2,4±0,05***	2,1±0,05***	1,8±0,04**
IgM, г/л	1,23±0,08	1,02±0,04*	2,2±0,04***	1,31±0,02**	1,45±0,03***	1,3±0,01**	1,2±0,04**	1,0±0,01	1,11±0,03*
IgG, г/л	10,2±0,2	10,0±0,31	15,4±0,46***	11,0±0,01**	11,9±0,01***	10,7±0,02	11,2±0,04***	9,7±0,02	10,2±0,2
CD22+	38,0±0,12	18,4±0,4*	42,5±0,3***	13,3±0,4***	18,3±0,9*	15,2±0,2***	24,4±1,2***	18,5±0,9*	30,1±1,4***

Примітка. \* –  $p < 0,05$  порівняно з донорами; \*\* –  $p < 0,05$  відносно групи порівняння.

донорів на 5 % ( $p \geq 0,05$ ), 6 % ( $p \geq 0,05$ ), 7 % ( $p \geq 0,05$ ) і збільшення щодо групи порівняння на 53 % ( $p < 0,05$ ), 25 % ( $p < 0,05$ ) і 10 % ( $p \leq 0,05$ ) відповідно.

Вміст CD22+ був знижений щодо значень донорів і групи порівняння на 65 % ( $p < 0,05$ ) і 18 % ( $p < 0,05$ ) відповідно.

На 12–16 добу вміст IgA перевищував значення донорів і групи порівняння на 38 % ( $p < 0,05$ ) і 101 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Також була відмічена тенденція до збільшення IgM щодо значень донорів на 6 % ( $p \geq 0,05$ ) і збільшення щодо показників групи порівняння на 28 % ( $p < 0,05$ ). Як відносно групи донорів, так і групи порівняння намітилася тенденція до збільшення IgG на 5 % ( $p \geq 0,05$ ) і 5 % ( $p \geq 0,05$ ) відповідно.

Вміст CD22+ був знижений щодо значень донорів і групи порівняння на 60 % ( $p < 0,05$ ) і 18 % ( $p < 0,05$ ) відповідно.

На 25–30 добу вміст IgA був збільшений щодо значень донорів і групи порівняння на 16 % ( $p < 0,05$ ) і 69 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Вміст IgM був знижений щодо значень донорів на 19 % ( $p < 0,05$ ) і збільшений щодо групи порівняння на 31 % ( $p < 0,05$ ). Відмічена тенденція до зниження рівня IgG щодо значень донорів і групи порівняння на 5 % ( $p \geq 0,05$ ) та 3 % ( $p \geq 0,05$ ) відповідно. Рівень CD22+ був знижений щодо значень донорів на 52 % ( $p < 0,05$ ) і відповідав показникам групи порівняння ( $p > 0,05$ ).

Стойка зміна імунологічних показників при госпіталізації найімовірніше свідчить про необхідність використання цілеспрямованої імунокорекції.

У хворих II групи на 7–8 добу спостерігалось збільшення вмісту IgA, M, G щодо значень донорів на 16 % ( $p < 0,05$ ), 17 % ( $p < 0,05$ ) і 16 % ( $p < 0,05$ ) і групи порівняння на 42 % ( $p < 0,05$ ), 69 % ( $p < 0,05$ ) і 19 % ( $p < 0,05$ ) відповідно.

Вміст CD22+ був знижений щодо значень групи донорів на 52 % ( $p < 0,05$ ) і відповідав групі порівняння ( $p > 0,05$ ).

На 12–16 добу відмічалось збільшення рівня IgA, G щодо значень донорів на 32 % ( $p < 0,05$ ) і 9 %

( $p < 0,05$ ), щодо групи порівняння – на 93 % ( $p < 0,05$ ) і 12 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Рівень IgM відповідав показнику донорів ( $p > 0,05$ ), але був підвищений щодо групи порівняння на 17 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Вміст CD22+ був знижений щодо значень донорів на 36 % ( $p < 0,05$ ) і збільшений щодо групи порівняння на 32 % ( $p < 0,05$ ).

На 25–30 добу рівень IgA відповідав показнику донорів ( $p > 0,05$ ), але перевищував значення групи порівняння на 45 % ( $p < 0,05$ ). Рівень IgM був нижчий за показник донорів на 10 % ( $p \leq 0,05$ ), але відмічалась тенденція до перевищення значень групи порівняння на 8 % ( $p \leq 0,05$ ). Рівень IgG відповідав як показнику групи донорів ( $p > 0,05$ ), так і групи порівняння ( $p > 0,05$ ).

Вміст CD22+ був нижчий за значення донорів на 21 % ( $p < 0,05$ ) і перевищив значення групи порівняння на 63 % ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, зміни співвідношення підкласів імуноглобулінів дають підстави думати про збіг патогенетичної структури імунних порушень із спектром імуноактивності використовуваних препаратів.

**Висновки.** 1. Дослідження механізмів формування імунних порушень у хворих на сепсис на тлі ускладненого СДС свідчать про важливу роль цитокінових медіаторів у підтримці гомеостазу.

2. Використання препаратів з імуномодулюючою дією в комплексі модифікованого лікування гнійно-запальних уражень м'яких тканин сприяє нормалізації рівня Ig, зниженню рівня ЦІК, а також зниженню дисбалансу між рівнем прозапальних і протизапальних цитокінів.

3. Зміни вмісту ІІ-10 у сироватці крові, а так само показників неспецифічного і специфічного гуморального імунітету, можуть бути використані для прогнозування тяжкості перебігу і вибору тактики лікування.

4. Ефективність модифікованого лікування свідчить про збіг патогенетичної структури імунних порушень із спектром імуноактивності використовуваних препаратів.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондарчук О. І. Особливості лікування синдрому діабетичної стопи у хворих похилого та старечого віку / О. І. Бондарчук, О. О. Воронський, Я. В. Карий // Клін. хірургія. – 2009. – № 11–12. – С. 17.
2. Сипливий В. О. Оцінка важкості та летальності хворих на гострий хірургічний сепсис / В. О. Сипливий, С. В. Грінченко, О. В. Береснев // Шпитальна хірургія. – 2005. – № 4. – С. 92–94.
3. Шаповал С. Д. Хирургический сепсис. Критерии диагностики / С. Д. Шаповал, Б. М. Доценко, В. Б. Мартынюк // Клін. хірургія. – 2007. – № 7. – С. 34–37.
4. Применение дискретного плазмафереза в комплексном лечении больных с сепсисом / С. Д. Шаповал, И. Л. Савон, О. О. Максимова [и др.] // Клін. хірургія. – 2009. – № 2. – С. 47–49.
5. Притуло Л. Ф. Содержание провоспалительных медиато-

ров и цитокинов T $\alpha$  1, 2 типа как иммунорегуляторный критерий у детей с гнойно-деструктивной пневмонией с учетом тинкториальных свойств возбудителя на этапе госпитализации / Л. Ф. Притуло // Клін. хірургія. – 2009. – № 2. – С. 56–60.

6. Cunnell J. The puzzle of sepsis: Fitting the pieces of the inflammatory response with treatment / J. Cunnell // Shok. – 2004. – Vol. 15, № 1. – P. 18–44.

7. Effect of lower extremity bypass surgery on inflammatory reaction and endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients / P. H. Tsai, J. J. Liu, S. Y. Chou [et al.] // Mediator's Inflamm. – 2009. – № 4. – P. 145–151.

8. White R. Topical therapies for diabetic foot ulcers: standard treatments / R. White, C. McIntosh // J. Wound Care. – 2008. – Vol. 17, № 10. – P. 426 ; 428–432.

Отримано 27.01.12